



TITLE:

自由:35 霊長類におけるX染色体上  
遺伝子の分子細胞遺伝学的研究(II  
共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

斎藤, 深美子

---

CITATION:

斎藤, 深美子. 自由:35 霊長類におけるX染色体上遺伝子の分子細胞遺伝学的研究(II 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1992, 22: 85-86

ISSUE DATE:

1992-10-31

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164326>

RIGHT:

かな相関を認めることができなかった。

今後は装着方法を検討すること、他の調査項目（ロケーションなど）との組合せによって、記録された波形より、行動パターンの分析を試み、より多くのデータとして扱えるようテストを進める計画である。また、温度センサー付きの発信機を装着し、離れた所から温度を記録する試みを行った。発信機のパルス間隔が温度変化によって変動するようになっているため、受信したパルス間隔からセンサー部分の温度を求めることができる。このセンサーを利用することによって、野生のニホンザルの環境選択を植生以外からも解明することができると考えられる。

#### 自由：34

##### 霊長類における腎機能と脳遺伝子発現の加齢変化に関する研究

中野 昌俊（愛知医大・加齢医科学研究所）

生物における加齢変化の現象は、リボフスチン沈着のように加齢に伴って増加するものと、各種生理機能、酵素活性などのように低下するものがある。腎機能の加齢変化に関する研究は、形態学的あるいは生理学的に古くから研究されている。しかし、霊長類における腎機能の加齢変化については殆ど知られていない。そこで、霊長類における腎機能の加齢変化を調べた。

霊長類は霊長類研究所の1歳から25歳までのニホンザルを用いて、24時間尿、血液および腎臓を使用した。ニホンザル腎臓の皮質部分を取り出してホモジュナイズしたものを粗酵素液とした。GFRは、クレアチニン・クリアランス（Ccr）を用い、尿細管機能として%TRP（リン再吸収率）を求めた。また、尿細管刷子縁膜酵素のleucine aminopeptidase（LAP）、 $\gamma$ -glutamyl transpeptidase（ $\gamma$ -GTP）、あるいはcytochrome oxidase活性、Na, K-ATPase活性を測定した。

尿中の蛋白質、糖などの分析では、加齢にともなう著しい変化は認められなかった。GFRは若齢期では低く、約6歳頃に最大となり以後低下した。しかし、尿細管の再吸収機能を表す%TRPは加齢にともなう変化が認められなかった。次に、腎臓別刷子縁膜に局在する酵素の活性を調べたところ、LAP、 $\gamma$ -GTP活性は加齢とともに低下し、Na, K-ATPase活性、cytochrome oxidase活性も

加齢とともに低下した。ニホンザル、ラットおよびウサギの年齢を横軸に、単位組織重量当たりのLAP活性を縦軸にとって表した場合、活性低下の傾きは寿命の長い動物ほど傾きはゆるやかになった。しかし、酵素活性を全腎臓重量で表した場合、LAP活性低下の傾きは、同じとなった。同様の現象は、GFRでも認められている。これらの結果より、ニホンザルの腎機能は加齢とともに低下し、その低下の傾きは全活性で表した場合、最長寿命の異なる動物も、その低下の傾きは同じであることがわかった。このことは、哺乳動物における老化の進行は、寿命の長さに関わらず同じであることが示唆される。

脳遺伝子に関する研究は、報告できる結果がなく、現在進行中である。

#### 自由：35

##### 霊長類におけるX染色体上遺伝子の分子細胞遺伝学的研究

斎藤深美子（東京医科歯科大・難治研）

本研究の目的は、X染色体上の種々の遺伝子あるいはDNA断片に関して、霊長類での比較染色体地図の作成、並びにそれらの細胞DNAの解析を行うことにある。

##### 1. in situ分子雑種形成を用いた比較染色体地図の作成

(1) 霊長類における高精度分染法の改良：染色体地図の作成のためには、良好で高精度な染色体分染像を得ることが必要不可欠で、それには末梢血培養法が最も適している。今年度は、合計8種29匹の霊長類の末梢血を培養し、これらに細胞同調法および染色体凝縮抑制法を適用した。そのうちチンパンジーではほぼヒトと同様の良好な標本を得ることができ、又ニホンザルではある程度成功した。しかし他の種では高精度分染法を適用できる染色体像を得るのは難しく、さらに培養法の改良が必要と考えられる。

(2) ビオチン標識した各種DNA断片のFISH法によるマッピング技術の適用：蛍光in situハイブリダイゼーションの手技をX染色体又は7番染色体セントロメア特異的DNAプローブを用いて、ヒトの染色体標本上で試行し、きれいな像を得た。今後はさらに、他のDNA断片、特に単一コピーDNAを用いた場合の手技改良の努力を

重ね、その成果を他の霊長類の場合へと応用したい。

## 2. 分子遺伝学的解析

各固体の採血量には限度があるため、採血された末梢血は、すべて染色体標本を得るための培養に用いられた。分子遺伝学的解析のためのDNA抽出用としては、実験殺後の多重利用可能なニホンザルについて、その筋肉あるいは肝臓の組織を凍結保存した。

自由 : 36

霊長類末梢血リンパ球のフッ化ナトリウム感受性の検討

岸 邦和 (杏林大・保健)

虫歯予防のために用いられているフッ化ナトリウム (NaF) は、ヒト細胞に染色体異常を誘発するがげっ歯類細胞には異常を誘発しない。これまでに、霊長類各種から樹立した細胞株のNaFに対する染色体感受性をしらべ、ボノボとチンパンジー由来細胞株がヒト類似の感受性を示し、原猿、新世界ザル、旧世界ザルおよびオランウータン由来細胞株がげっ歯類細胞株類似の非感受性を示すことを明らかにした。この結果は、NaFに対する細胞の感受性が系統発生学的な背景によることを示唆している。本共同利用研究では、末梢血リンパ球にも細胞株同様に感受性の種間差が認められるか否かを検討することを目的とした。

原猿 (オオガラゴ, ワオキツネザル), 新世界ザル (マーモセット, リスザル, ヨザル), 旧世界ザル (ミドリザル, マントヒヒ, ニホンザル) および類人猿 (アジルテナガザル, シロテテナガザル) の培養末梢血リンパ球を、常法に従って24時間NaF処理した染色体標本について染色体異常を観察した。その結果、類人猿と旧世界ザルの培養リンパ球には高頻度に染色体異常が認められたのに対して、新世界ザルの培養リンパ球の感受性は低く、原猿の培養リンパ球には染色体異常の誘発が見られなかった。

本研究の結果、NaFの染色体異常誘発作用に対する細胞の感受性は、系統発生学的背景を有することを支持する結果を得た。また、旧世界ザルなどにおいて、細胞株は非感受性であったが培養末梢血リンパ球が高感受性を示したことは、細胞の株化による感受性の変化の機構の存在を示して

いる。NaFの染色体異常誘発機構が不明であるため、感受性の種間差の由来や株化による感受性の変化の機構も現在のところ不明である。今後、これらの諸点の検討によって、NaFのヒトに対する変異原性の有無を明らかにする必要があると考えられ、霊長類細胞は、NaFの染色体異常誘発機構を解明するための手がかりを提供すると期待される。

自由 : 37

生殖機能の中樞の統御機構、いわゆる「LHRH pulse generator」について

前多敬一郎・大蔵 聡・川合基之・川上真一

哺乳動物において性腺の活動は下垂体からパルス状に分泌される黄体形成ホルモン (LH) によって主に調節されている。LHのパルスはLH放出ホルモン (LHRH) のパルスに一対一に対応しており、そのパルスを発生する機構がLHRH pulse generatorと呼ばれている。われわれはラットを用いたこれまでの実験からこの機構は視床下部弓状核あたりに存在する非LHRHニューロン群であり、正中隆起におけるLHRHニューロン末端においてそのパルス状放出を制御しているという仮説を立てた。アカゲザルを用いた研究から霊長類におけるLHRHニューロンの局在はラットとは大きく異なり、その細胞体が視床下部内側基底部に数多く存在することが明らかとなっている。本研究では、上述の仮説に基づき、正中隆起におけるLHRHニューロン終末と他のニューロンとの接触を電顕二重免疫染色法により観察し、ラットとニホンザルを比較しようとした。

本年度はラットを用い、LHRH及びチロシン水酸化酵素 (TH) に対する二重免疫染色法の検討を行うとともに、雌ニホンザル2頭の脳を灌流固定したので、以下にその概要を記す。発情周期中にあるラットから取り出した脳より視床下部を採取し、4%パラホルムアルデヒドと0.5%グルタルアルデヒドを含むリン酸緩衝液中で浸漬固定した。ビブラトームにより厚さ50  $\mu\text{m}$  の前断面切片を正中隆起より得た。最初にABC法によりLHRHに対する免疫染色を行い、DABで発色した。この反応物を銀で増感し、さらに金で置換した。その後同一切片についてTHを染色し、樹脂包埋した後、超薄切片を作成して、電顕で観察し